

SZYSZYŃKA ŚWIŃ

Zygmunt Wyrzykowski, Krystyna Wyrzykowska, Barbara Przybylska

Zakład Histologii i Embriologii Instytutu Podstawowych Nauk
Weterynaryjnych

Akademia Rolniczo-Techniczna, Olsztyn-Kortowo

Szyszynka jest narządem o wyjątkowo ciekawej filogenezie oraz budowie anatomicznej i topografii. U prymitywnych, nie będących ssakami kręgowców, jest narządem zmysłu, posiadającym fotoreceptory i komórki czuciowe, przypominające siatkówkę [10, 33]. U gadów i ptaków reprezentuje narząd receptorowo-sekrecyjny [4, 5, 18, 34], a u ssaków jest wyłącznie gruczołem o wydzielaniu wewnętrznym [20-22, 28, 37, 40-42].

W swojej monografii, poświęconej anatomii szyszynki ssaków Pevet [39] wymienia kilka czynników wywierających wpływ na wymiary i bezwzględną masę szyszynki. Na pierwszym miejscu stawia warunki geograficzno-klimatyczne. Zwierzęta żyjące w strefach arktycznych, subarktycznych lub na dużych wzniesieniach nad poziomem morza mają z reguły dużą szyszynkę, np. foka, mors, słoń morski. Takie zwierzęta jak mrówkojad, leniwiec czy łuskowiec nie mają wcale szyszynki. Wszystkie one żyją w ograniczonych strefach równikowych lub tropikalnych. Bardzo małą szyszynkę posiadają: nosorożec, słoń i krowa morską.

Poza uwarunkowaniami geograficzno-klimatycznymi na wielkość szyszynki ma wpływ nocny lub dzienny tryb życia. Ten ostatni, podobnie jak konieczność utrzymania stałej temperatury u zwierząt endotermicznych, wiąże się z większą szyszynką. Znane są również szyszynki występujące w postaci rozproszonej, w których w silnie rozbudowanym utkaniu glejowo-łącznotkankowym znajdują się komórki mięszone. Taką szyszynkę opisał Haug u słońca [14]. Szyszynka kreta europejskiego natomiast jest wpułkła do światła komory III [16].

Ze względu na ukształtowanie i topografię Vollrath proponuje klasyfikację szyszynek na 5 podstawowych typów, oznaczanych symbolami alfabetu łacińskiego i greckiego [49]. Dotychczas szyszynki bardzo wielu gatunków kręgowców badano pod różnym kątem. Dla przykładu Legait i wsp. analizowali korelację między szyszynką a masą ciała u 136 gatunków małych ssaków, żyjących w różnych warunkach środowiska [27].

Do najczęściej używanych do badań nad szyszynką zwierząt należą gatunki posiadające ten narząd zlokalizowany powierzchownie - łatwo dostępny do zabiegów eksperymentalnych. Tak zlokalizowaną szyszynkę mają między innymi królik [43, 44], szczur [11, 48] i chomik [6]. U tych zwierząt szyszynka ma postać wydłużonej pałeczki z kolbkowatym rozszerzeniem na końcu, oznaczanym jako typ α , β , C lub α , C wg klasyfikacji zaproponowanej przez Vollratha. Oznacza to, że szyszynka jest cienka, wydłużona, sięgająca co najmniej do granicy mózdzku. Główna masa komórek mięszonej skupiona jest w dalszym odcinku (C), natomiast szypułkowate odcinki α i β , w pierwszym przypadku zawierają komórki mięszone, w drugim natomiast odcinek środkowy jest tylko łącznotkankową szypułką.

U ssaków domowych dobrze poznana jest histologia i ultrastruktura szyszynki krów i owiec [1, 32], konia [6], psa [45]. Badania nad szyszynką świń prowadził Arvy [2], Owman [35], Blin i Maurin [3], Dumm i Iturriza [9], Dacheux i Martinat [7] oraz Wyrzykowski i wsp. [51-57].

Pomimo licznych badań szyszynki świń, w tym również anatomicznych z uwzględnieniem ultrastruktury tego narządu [9, 24, 52, 53, 58, 59], wiele morfologicznych problemów nie zostało do końca rozstrzygniętych. Do nich należy zagadnienie jednorodności populacji komórek mięsaszowych - pinealocytów, genezy i roli ciałek gęstych, występujących w cytoplaźmie tych komórek i wiele innych. Dlatego celowe wydaje się zebranie dotychczas uzyskanych wyników badań morfologicznych nad szyszynką świń i porównanie z szyszynkami innych gatunków ssaków, w tym również przedstawicieli suidae żyjących w naturalnym środowisku.

W badaniach własnych wykorzystano szyszynki ponad 250 świń w wieku od 60 dnia życia płodowego aż do ponad 3 i pół lat po urodzeniu. Badano również szyszynki dzika - samca ok. 7-miesięcznego i ok. 5-letniej samicy, odłowionych w okresie zimy (styczeń, luty). Ponadto 4 świń miniaturowych, które w odróżnieniu od świń normalnych selekcjonowane są w kierunku maksymalnego zmniejszenia masy ciała. Płat przedni ich przysadki mózgowej jest bardzo słabo wykształcony i zarówno jego masa jak i objętość są mniejsze w porównaniu z płatem nerwowym [15].

ANATOMIA I TOPOGRAFIA SZYSZYŃKI

U wszystkich badanych przedstawicieli suidae szyszynki mają kształt stożkowy lub wrzecionowaty o różowo-kremowym za-

barwieniu i łączą się z nadwzgórzem poprzez krótkie spoidło uzdeczki i spoidło tylne. Zgodnie z klasyfikacją Vollratha [49] reprezentują typ A lub AB. Kształty szyszynki świń są indywidualnie zmienne i mogą być różne, nawet u osobników tej samej płci i pochodzących z tego samego miotu. Najczęściej jednak obserwowano szyszynki kształtu wrzecionowatego - typ AB, kierujące się dogrzebietowo i odustnie w stosunku do międzymózgowia. Część dalsza (wierzchołek) przykryta jest spletem kosmówkowym naczyń krwionośnych, odgałęzienia którego łączą się z torebką szyszynki na szczycie jej części dalszej.

Wymiary szyszynki u dojrzałych płciowo osobników wahają się w granicach 5-8 mm długości i do 3,5 mm grubości, mierzonej w jej najszerszej części. Większe wymiary szyszynki, szczególnie w okresie ciąży i laktacji, stwierdzono u osobników żeńskich, w porównaniu do równych wiekiem samców (dane nie publikowane).

W 60 dniu życia płodowego szyszynka świń jest już dobrze widoczna. Delikatna torebka łącznotkankowa, zbudowana głównie z włókien klejodajnych, w części wierzchołkowej łączy się ze spletem kosmówkowym. Komórki mięszkowe są luźno ułożone, często zgrupowane na kształt pęcherzyków lub pasm. Między nimi znajdują się liczne naczynia kapilarne o szerokim świetle.

W 90 dniu szyszynka osiąga wymiary 3,3 x 1,0 mm. Mięsz podzielony jest pasmami łącznotkankowymi, tworzącymi niezupełnie oddzielone płaciki. Jest to już obraz szyszynki dojrzałej, typowej dla prosiąt w wieku 2-3 miesięcy po urodzeniu.

U osobników starszych (lochy ponad 2,5-letnie) w budowie wewnętrznej szyszynki zostaje wyodrębniona część korowa, wyróżniająca się bardziej zwartym utkaniem i występującymi tutaj w przewodzie ciemno barwiącymi się komórkami mięsistymi. Centralny obszar gruczołu - rdzeń - zbudowany jest głównie z jasnych, luźniej ułożonych komórek [52, 53].

U niektórych dojrzałych płciowo osobników (7-8 miesięcy), a z reguły u starszych, środkowa część rdzenia zbudowana jest z wypustek komórek glejowych i włókien łącznotkankowych, wśród których rzadko spotykane są pojedyncze lub też zgrupowane (2-3) komórki mięsiste. W niektórych szyszynkach w tym miejscu obserwowano różnej wielkości jamkę centralną, której granice wyznaczały zagęszczone włókienka astrocytów. Najczęściej tego typu centralne jamki wypełnione płynem obserwowano w szyszynkach dojrzałych płciowo samców (u 4 na 11 badanych). Część jamek posiadała bezpośrednie połączenie ze światłem zachyłka szyszynkowego. Nawet w tych przypadkach zarówno jamka, jak i kanał łączący ją z zachyłkiem, nie posiadały ependymalnej wyściółki [57]. U około 2% badanych świń w miejscu jamki stwierdzono obecność cyst, uwypuklających jednostronnie, na kształt przezroczystego pęcherzyka, ścianę szyszynki.

W szyszynkach 6-8-miesięcznych samców kastrowanych w okresie 2 tygodnia życia występuje szeroka strefa pośrednia między korą i rdzeniem, zbudowana z komórek mięsistych o cechach pośrednich między ciemno- i jasno barwiącymi się komórkami mięsistymi [53, 54].

KOMÓRKI MIĄSZOWE - PINEALOCYTY

Obserwacje w mikroskopie świetlnym i elektronowym umożliwiły określenie kształtu pinealocytów świń. Podobnie jak u innych ssaków [1, 6, 29, 43, 45], pinealocyty świń posiadają przynajmniej jedną stosunkowo szeroką wypustkę, której kolbkowato rozszerzone zakończenie leży na granicy lub wewnątrz przestrzeni okołonaczyniowej. Zakończenia wypustek często otaczają naczynie krwionośne na kształt pierścienia. Perikariony pinealocytów posiadają okrągłe lub owalne zarysy, z nerkowatym lub posiadającym głębokie inwaginacje jądrem. Wpuklenia cytoplazmy rozpoznawane były przez niektórych autorów opisujących szyszynkę jeszcze przed wprowadzeniem do badań biologicznych mikroskopu elektronowego jako "kule jądrowe".

Badania Karaska, prowadzone na poziomie subkomórkowym, ostatecznie rozstrzygnęły ten problem [23].

U wszystkich badanych przedstawicieli suidae zarówno cytoplazma perikarionów, jak też wypustek pinealocytów, barwionych fuksyną aldehydową, uwidacznia obfitość ziarnistości. Pierwsze z nich zostały zaobserwowane już w pinealocytach 90-dniowych płodów świń. Ich występowanie jest niezależne od wieku, płci, aktywności płciowej, a nawet obecności gonad u samców. Liczebność ziarnistości cytoplazmatycznych, ich rozmieszczenie, wymiary, kształty i intensywność wybarwiania się fuksyną aldehydową jest niejednakowa i zależy od wielu czynników. Z reguły perikariony pinealocytów kory posiadają więcej i silniej barwiących się ziarnistości, podobnie jak zakończenia niektórych wypustek.

W składzie chemicznym ziarnistości cytoplazmatycznych stwierdzono stosunkowo dużą ilość lipidów, wybarwiających się Sudanem czarnym B i błękitem luksolowym, stosowanych po utleniających utrwalaczach, lipofuscyn oraz bardzo małą ilość białek. Niektóre ziarnistości wykazywały również słabą aktywność kwaśnej fosfatazy, częściej w przyjądrowej niż obwodowej strefie perikarionu (rys. 3). Nie stwierdzono natomiast w ziarnistościach obecności kwaśnych mukopolisacharydów ani glikogenu [35, 52, 55].

W skrawkach parafinowych, barwionych fuksyną aldehydową, ziarnistości widoczne są we wszystkich pinealocytach, chociaż liczba, rozmieszczenie i cechy morfologiczne wydają się być związane ze stanem fizjologicznym lub wiekiem badanych zwierząt.

W szyszynkach 2-4-miesięcznych prosiąt (dane nie publikowane) w odróżnieniu od dojrzałych płciowo samic, ziarnistości te są równomiernie rozmieszczone w cytoplaźmie wszystkich perikarionów i wykazują podobne wymiary, kształty i barwliwość. U dojrzałych płciowo i używanych do rozplodu samców wykazują one słabą barwliwość i zawierają mało lipidów [57].

U ciężarnych samic (60 i 90 dzień ciąży) oraz w czasie pierwszych dwu tygodni karmienia prosiąt ziarnistości cytoplazmatyczne zawierają wiele lipidów i łączą się w duże skupiska [53, 56].

Użycie mikroskopu elektronowego wykazało, że ziarnistości cytoplazmatyczne są ciałkami gęstymi o wymiarach 0,3-2,5 μm i krańcowo zmiennej strukturze wewnętrznej. Od cytoplazmy podstawowej oddzielała je z reguły pojedyncza błona, dlatego też, dla odróżnienia od kropeł wolnych lipidów opisywane były jako membrane bound bodies (MBB) [24].

Uwzględniając cechy morfologiczne oraz zawartość lipidów, wyróżniono wśród nich trzy podstawowe typy oznaczane cyframi. Ciałka gęste o wymiarach 0,8-2,5 μm , nieregularnej, zmiennej budowie wewnętrznej oraz o dużej zawartości lipidów, zostały określone jako MBB-1. Ciałka do 1,5 μm średnicy o regularnym, koncentrycznym lub równoległym układzie jasnych i ciemnych blaszek, posiadające często elektronowo gęsty rdzeń - to MBB-2 (rys. 1). W ich składzie chemicznym stwierdzono niewielką ilość lipidów w porównaniu z MBB-1. MBB-3 reprezentują najmniejsze, bogatolipidowe ciałka, których regularna, wieloblaszkowata struktura wewnętrzna uwidacznia się dopiero przy powiększeniach rzędu 60 tys. razy [55].

Najczęściej spotykanymi ciałkami gęstymi są MBB-1, najrzadziej natomiast MBB-3. Wszystkie trzy rodzaje ciałek gęstych występują w cytoplaźmie okołojądrowej, natomiast w zakończeniach wypustek tylko MBB-1. Podobne ciałka gęste (MBB-1 i MBB-2) występują w cytoplaźmie pinealocytów dzika i świń miniaturowych [58, 59].

Pochodzenie i rola ciałek gęstych nie są dotychczas poznane. Stwierdzona w niektórych z nich słaba aktywność kwaśnej fosfatazy [9, 24, 53, 54] sugeruje, że są to wtórne lizosomy. Przemawiają za tym również następujące obserwacje morfologiczne:

1. Obecność fragmentów i całych organelli komórkowych we wnętrzu MBB-1, spośród których najczęściej spotykanymi są pęcherzyki ziarniste (DCV) [37].

2. Zarówno w cytoplaźmie perikarionów, jak też w zakończeniach wypustek, gdzie obok prawidłowych ciałek gęstych (MBB)

widoczne są jedynie ich fragmenty, z których najdłużej zachowuje się błona zewnętrzna (rys. 2).

3. Łączenie się MBB-1 w duże skupiska otoczone wspólną błoną zewnętrzną, gdzie trzy do czterech MBB-1 tworzą otoczone wspólną błoną skupiska pierwotne, a te z kolei duży konglomerat, osiągający nawet powyżej $2,5 \mu\text{m}$ średnicy. W największych z nich widoczna jest nawet trójstropniowa budowa wewnętrzna. Skupiska MBB-1 tworzą się zarówno w cytoplazmie perikarionów, jak też w zakończeniach wypustek.

W cytoplazmie perikarionów pinealocytów świń miniaturowych (rys. 5), ciężarnych i karmiących [56] oraz u 7-miesięcznego dzika [58, 59] obserwowane były szczególnie często skupiska ciałek gęstych największych rozmiarów.

4. Usuwanie z komórki - egzocytoza. Wiele obserwacji wskazuje, że nie tylko fragmenty ciałek gęstych, ale nawet ich skupiska mogą być usuwane z cytoplazmy do przestrzeni międzykomórkowych, głównie rdzenia szyszynki. Pojedyncze ciała gęste, leżące w przestrzeniach międzykomórkowych, obserwowane były w szyszynkach warchlaków (dane niepublikowane) i dojrzałych płciowo samic. Na wykonanych preparatach histologicznych barwionych fuksyną aldehydową, ciała gęste wypełniały do tego stopnia przestrzenie, że te fragmenty szyszynki opisywane były jako "zatarte" [52]. Ponadto, skupiska ciałek gęstych obserwowane były w przestrzeniach międzykomórkowych świń ciężarnych i karmiących, miniaturowych oraz dzików [56, 58, 59]. Nie spotykano wcale lub bardzo rzadko ciała gęste w przestrzeniach międzykomórkowych szyszynki dojrzałych płciowo rocznych samców oraz 3,5-letniej samicy [57].

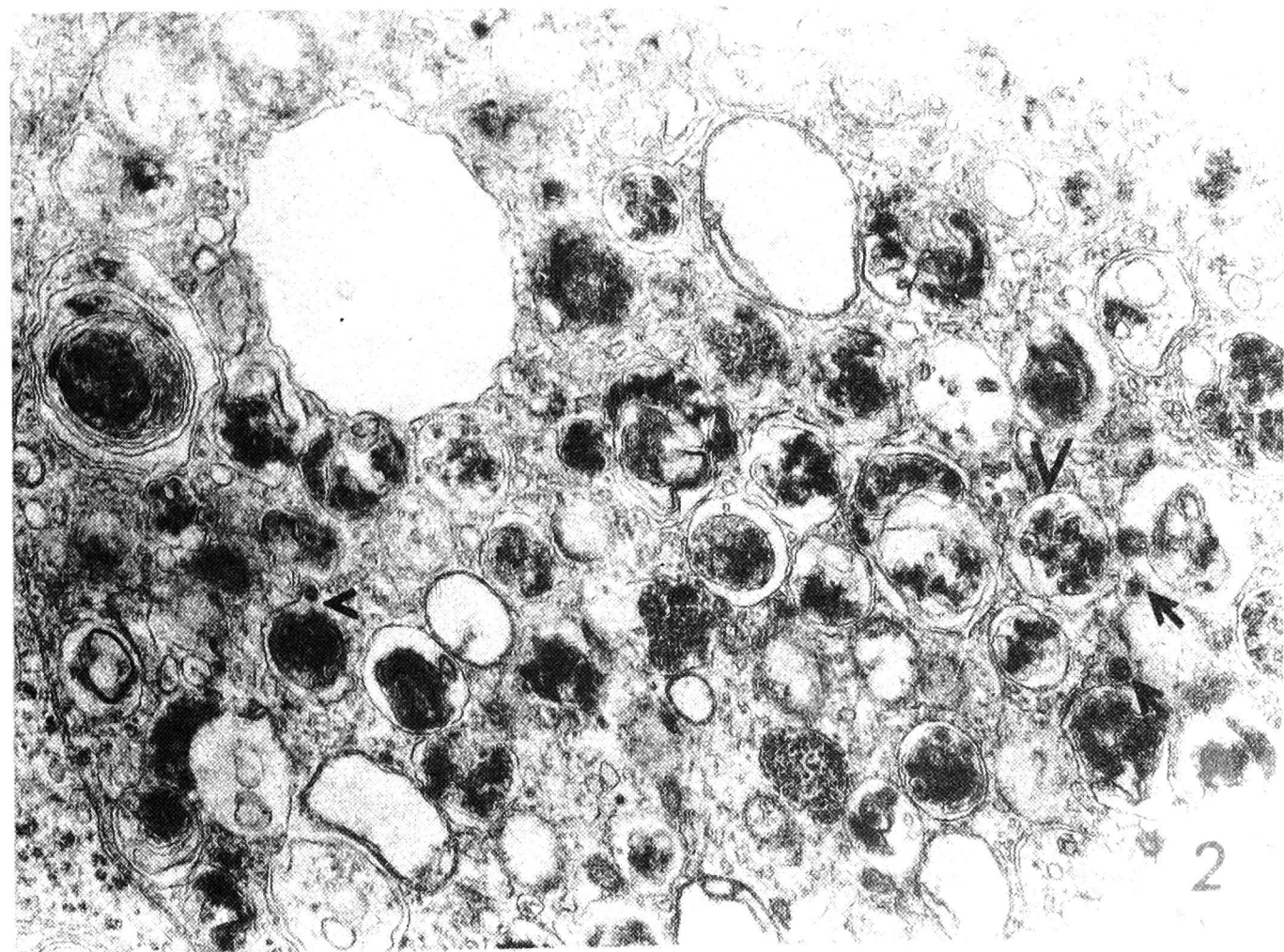
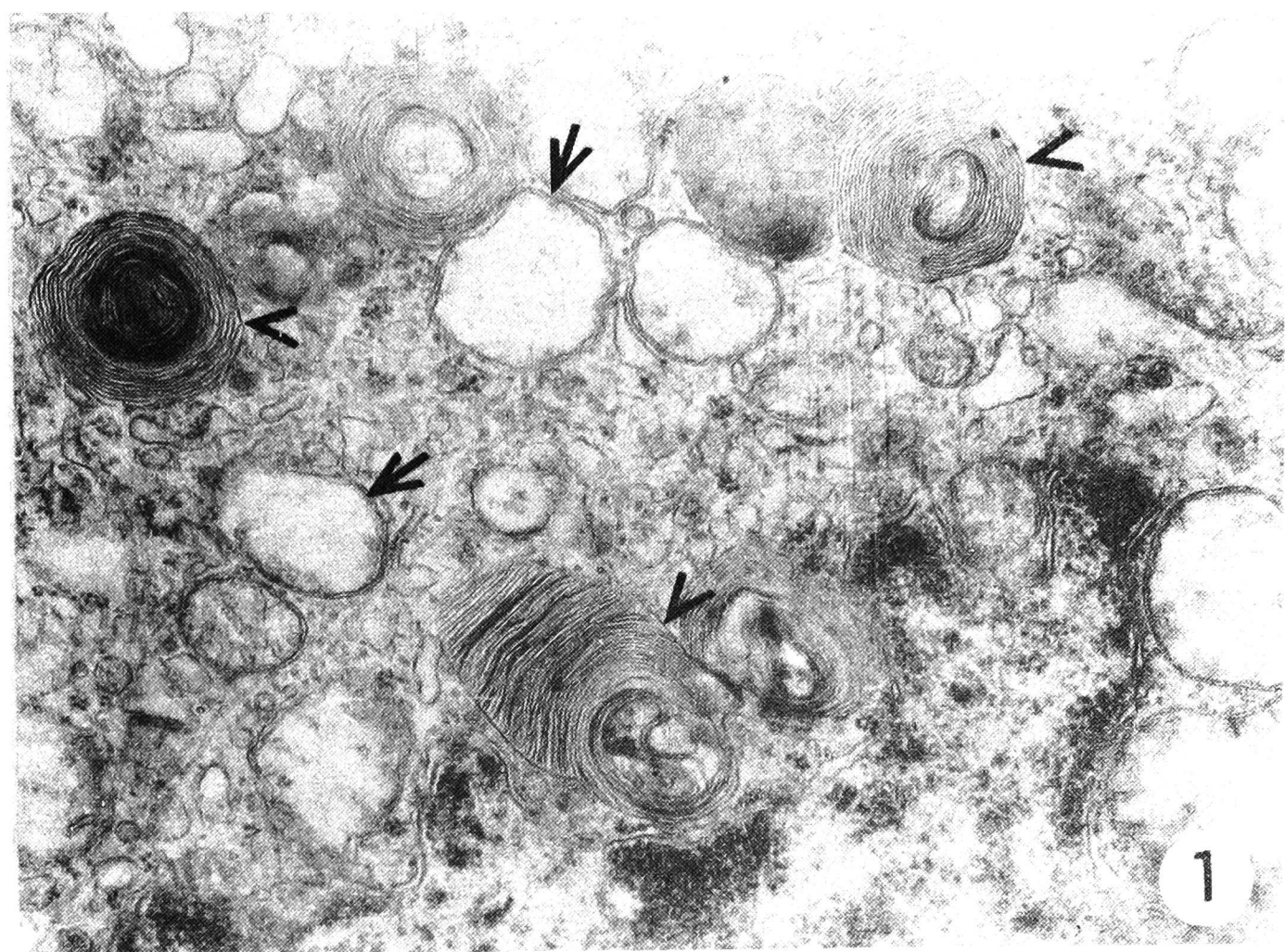
Wyniki naszych dotychczasowych badań sugerują, że ciała gęste są czynnie włączone w proces sekrecji szyszynki u suidae [55, 56].

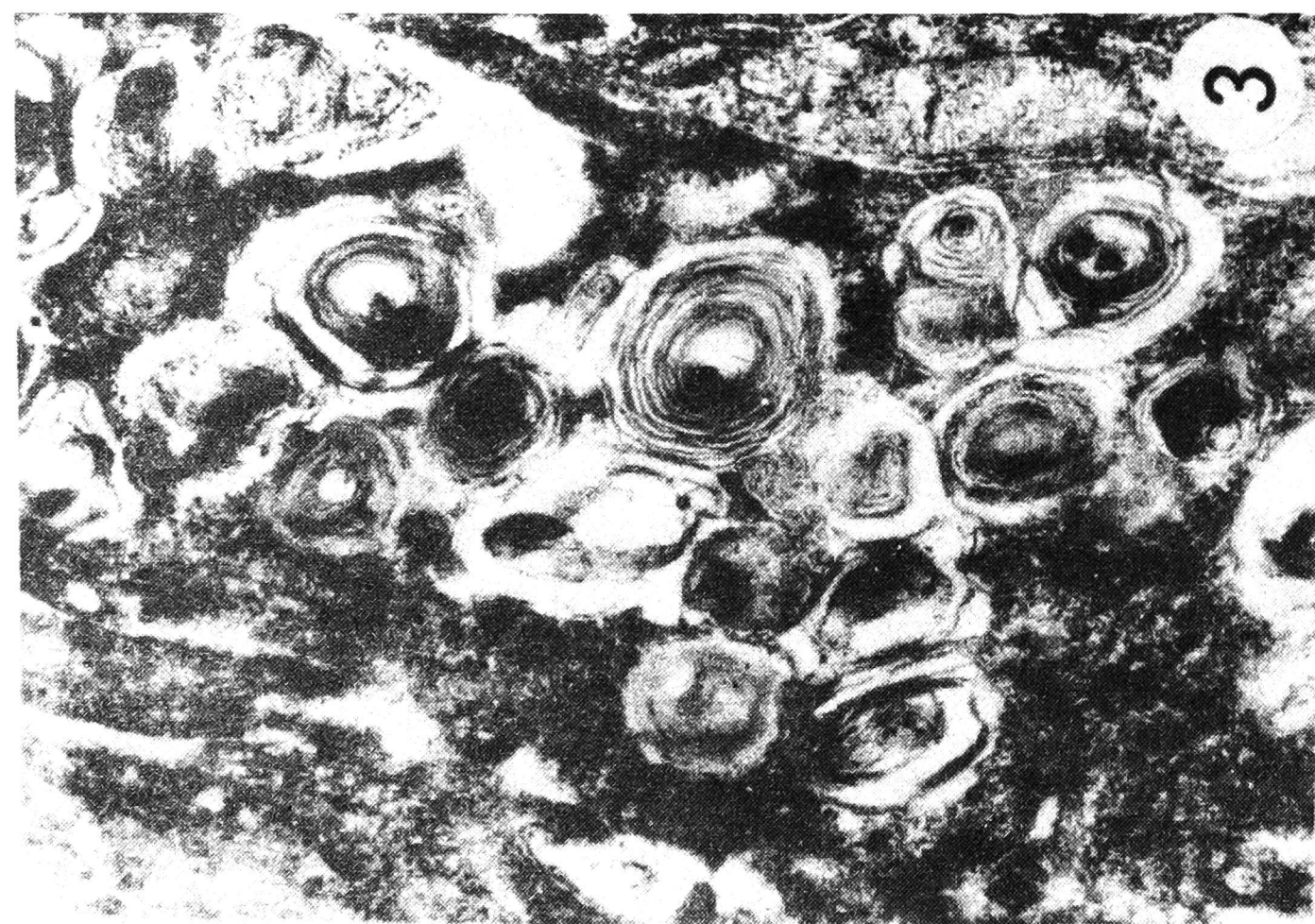
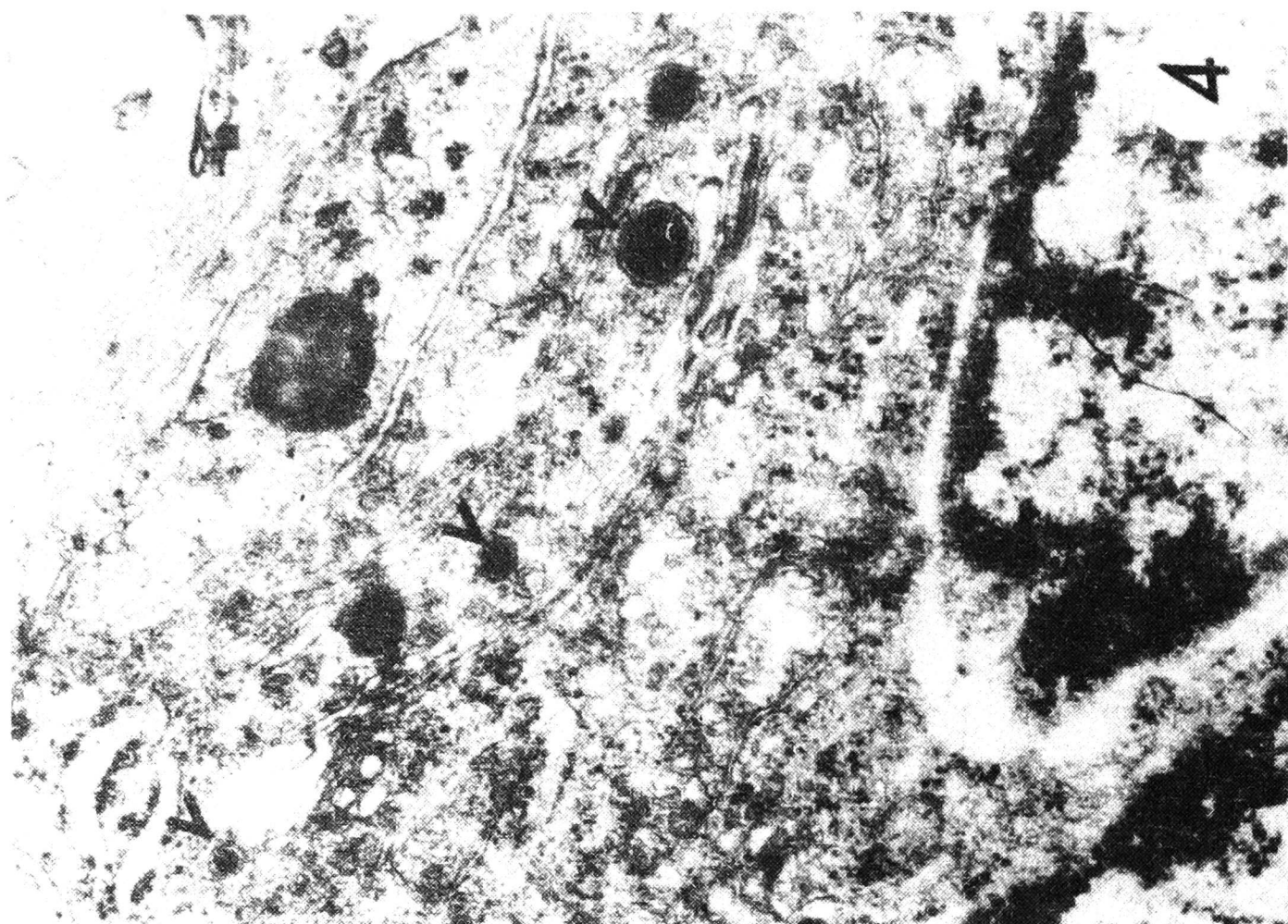
Chociaż trudno na podstawie obserwacji morfologicznych wnioskować o funkcji narządu, wydaje się jednak, że rola ciałek gęstych związana jest raczej ze wspomaganiem lub wzmożeniem aktywności szyszynki niż z usuwaniem nadmiaru inkretu (ów) - krynofagią.

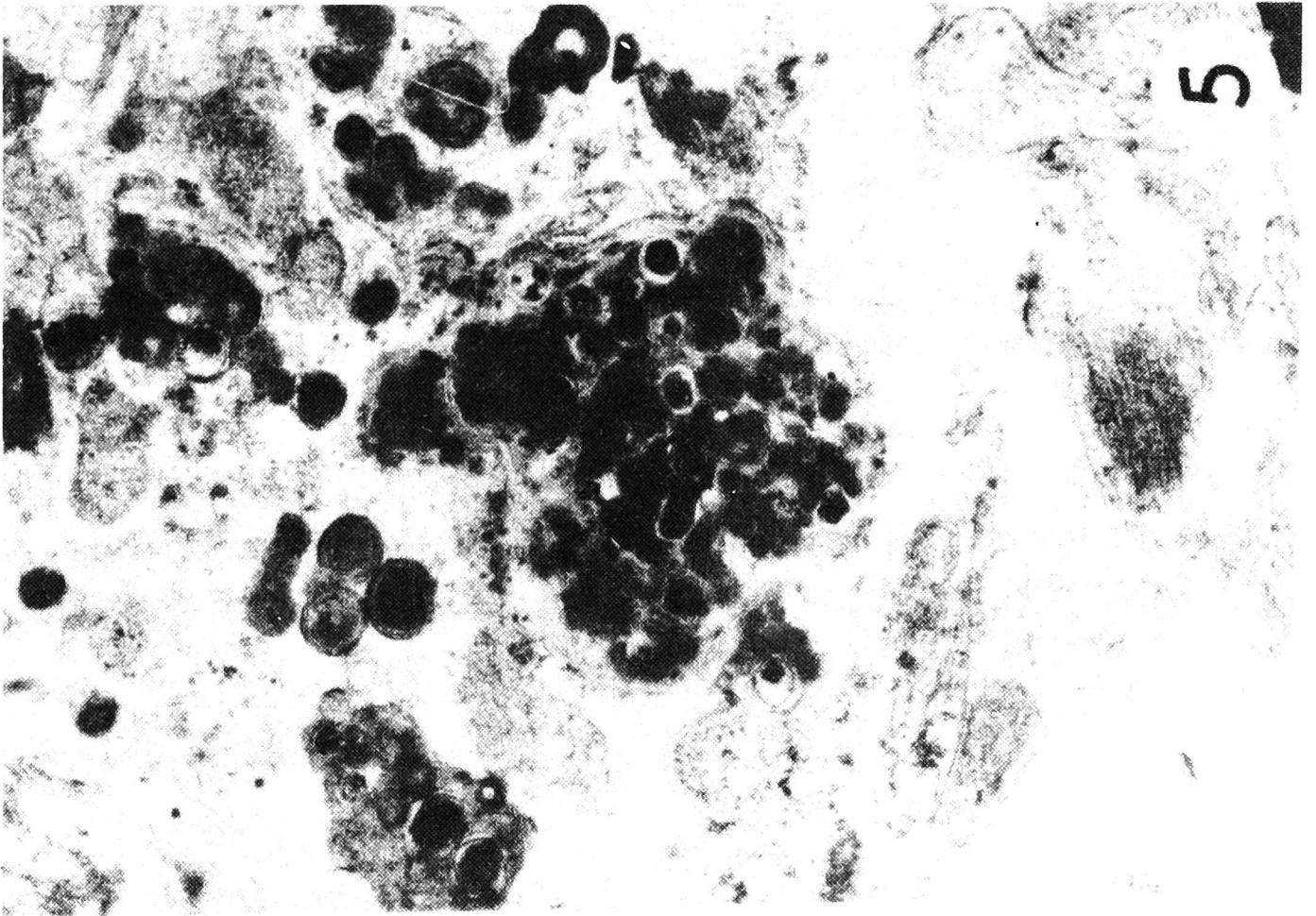
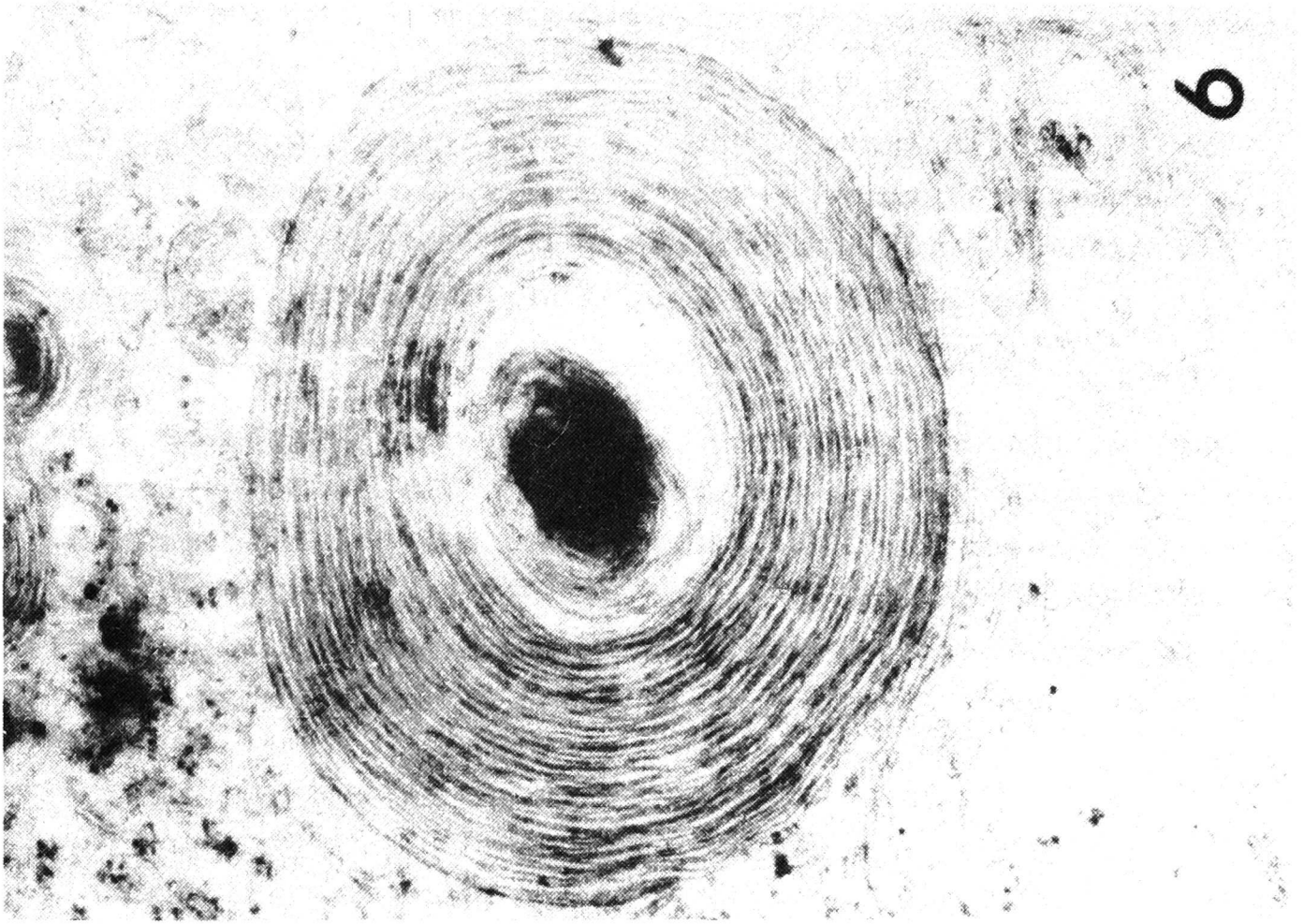
Zgodnie z takim założeniem ciała gęste stanowią "magazyn surowców" takich jak lipidy, lipofuscyny, być może również peptydy i pochodne tryptofanu. Dotychczas wiadomo, że serotonina u jaszczurki czy papugi [5, 17-19] zlokalizowana jest w rdzeniu DCV, z których u świń przynajmniej część zostaje fagocytowana przez MBB-1 (rys. 2). Zawartość MBB-1 hydrolizowana jest enzymami lizosomów, produkty tejże hydrolizy zostają przeniesione do przestrzeni międzykomórkowych lub przestrzeni okołonaczyniowych, skąd dostają się do krwi. Być może w okresach wzmożonej aktywności szyszynki "magazyn" ten funkcjonuje, podobnie jak konkrementy wapniowe w szyszynce człowieka [26], gerbilla [50], owcy, konia [8] i bydła [30].

Obecność tylko jednego typu ciałek gęstych MBB-1 w zakończeniach wypustek oraz występowanie form pośrednich między MBB-2 i MBB-1 w cytoplaźmie perikarionów [55] sugeruje, że jest to jedna populacja ciałek gęstych, reprezentująca różne etapy ich funkcji.

Poza ciałkami gęstymi do bardzo dobrze rozbudowanych organelli pinealocytów należą: aparat Golgiego, polisomy i mitochondria. W mikroskopie świetlnym aparat Golgiego wykontrasto-







Rys. 1. Ciałka gęste - MBB-2 w perikarionie pinealocyta o charakterystycznym regularnym układzie blaszek (główki strzałek), "obrzmiące mitochondria" (strzałki). Prosię w wieku około 3 m-cy. Pow. x 36 000

Rys. 2. Procesy zachodzące w obrębie ciałek gęstych - fagocytowanie pęcherzyków ziarnistych (DCV) - DCV w bezpośrednim sąsiedztwie MBB-1 (strzałki), DCV na obwodzie MBB-1 bezpośrednio pod błoną zewnętrzną (główka strzałki mała), DCV w początkowym okresie rozpadu w obrębie MBB-1 (główka strzałki duża), Prosię w wieku około 4 m-cy. Pow. x 20 000

Rys. 3. Reakcja KF w ciałkach gęstych (MBB-2) pinealocytów. Samica w 60 dniu ciąży, wiek około 1,5 roku. Pow. x 32 000

Rys. 4. Pęcherzyki ziarniste - DCV (główki strzałek) o różnych rozmiarach w perikarionie szyszynki dzika.
Pow. x 48 000

Rys. 5. Konglomerat MBB-1 i MBB-2 w obrębie przestrzeni międzykomórkowej. Samica świni miniaturowej, wiek około 3 lat.
Pow. x 12 000

Rys. 6. Charakterystyczne kłębki, tworzone przez gładką siateczkę śródplazmatyczną w obrębie perikarionu pinealocyta świni miniaturowej. Pow. x 36 000

wany azotanem srebra przedstawia się w formie grubego pierścienia okalającego jądro [52].

Na elektronogramach w każdym pinealocycie widoczne są przynajmniej dwa profile diktiosomów, często z bardzo rozszerzonymi wakuolami. Tak dobrze rozbudowany aparat Golgiego obserwowano zarówno w pinealocytach świń normalnych, miniaturowych jak też dzików [58, 59].

Rozetkowane postacie polisomów, podobnie jak aparat Golgiego, nie występowały w zakończeniach wypustek pinealocytów. Pinealocyty świń są bogato wyposażone w grzebieniaste mitochondria, bardzo często o wydłużonych i rozgałęzionych zarysach przekrojów, występujące w całej cytoplazmie pinealocytów. Szczególnie duże ilości obserwowane były w zakończeniach wypustek, w których niekiedy przewyższały liczbę znajdujących się tutaj MBB-1. W określonych obszarach cytoplazmy jednego pinealocyta występowały obok siebie mitochondria w postaci ortodoksyjnej i skondensowanej (rys. 1). Ponadto typowym obrazem dla pinealocytów świń dojrzałych płciowo były mitochondria "obrzmiące" o nielicznych grzebieniach i bardzo jasnej macierzy lub postacie przypominające ciała gęste.

W pinealocytach wszystkich badanych przedstawicieli suidae obserwowano raczej średnio rozbudowaną siateczkę śródplazmatyczną, przy czym częściej gładką niż ziarnistą. Obserwacje te wymagają jeszcze potwierdzeń ilościowych.

Siateczka gładka bardzo często tworzyła szerokie cysterny lub pęcherzyki. W niektórych z nich obserwowano jednorodną lub kłaczkowatą zawartość.

Zarówno gładka jak też ziarnista siateczka śródplazmatyczna biorą udział w tworzeniu kłębków lub struktur o bardzo skomplikowanej budowie wewnętrznej, typowych dla szyszynki wielu gatunków ssaków. Pierwsze tego typu twory obserwowane były już w pinealocytach 90-dniowych płodów świń (rys. 6).

Również typowymi dla szyszynki są pęcherzyki ziarniste (DCV). Pinealocyty świń należą do skąpo wyposażonych w DCV w porównaniu z innymi gatunkami ssaków [38]. Samodzielnie występują one głównie w cytoplaźmie perikarionów tylko wyjątkowo w zakończeniach wypustek [24]. Wielokrotnie obserwowano je w pobliżu lub wewnątrz MBB-1 (rys. 2, 4). Osiągają one wymiary 100-250 nm, a ich liczba są nawet 5-krotnie większe (rys. 4). Ponadto w cytoplaźmie pinealocytów obserwowane były lizosomy pierwotne, krople wolnych lipidów, migawki o układzie 0+9 mikrotubul, ziarenka barwników oraz ciała wielopęcherzykowe, mikrotubule i mikrofilamenty. Szczególnie dużo wolnych lipidów obserwowano w pinealocytach 2,5-letniego samca świń miniaturowych [24, 56, 58]. Do organelli nieczęsto spotykanych należą tzw. prążki synaptyczne, zlokalizowane zarówno w pobliżu, jak też z dala od błony komórkowej [24].

Pinealocyty świń mają wyraźnie zróżnicowaną budowę jądra. Jedne z nich mają nieregularne jądro, wybitnie ubogie w heterochromatynę, z jednym położonym obwodowo jąderkiem. Jądra innych pinealocytów posiadają różnych rozmiarów skupiska heterochromatyny, przylegającej do otoczki jądrowej. Z reguły pierwszy rodzaj jąder jest typowy dla pinealocytów jasnych o mniejszej gęstości elektronowej i mniejszej liczbie ciałek gęstych [52, 53, 54].

Objętość jąder pinealocytów kory szyszynki, obliczona na podstawie bezpośrednich pomiarów na skrawkach parafinowych, wykazała statystycznie istotne różnice zależne od wieku, płci i stanu fizjologicznego świń. Średnia objętość jąder pinealocytów 3-miesięcznych płodów i nowo narodzonych prosiąt wynosi odpowiednio 33,24 i 42,17 μm^3 . Pod koniec 4 miesiąca życia prosiąt wartość ta wzrasta trzykrotnie. W wieku 6 miesięcy średnia objętość jąder pinealocytów świń wynosi 207,76 μm^3 . Wyniki tych badań wykazały ponadto, że aktywność płciowa samców wiąże się ze statystycznie istotnym obniżeniem objętości jąder, zaś u samic odwrotnie - ze wzrostem, szczególnie nasilonym w okresie ciąży i laktacji (dane nie publikowane) [59].

Powyższe wyniki nie są zgodne z uzyskanymi przez Gutte i wsp., którzy nie obserwowali związku między aktywnością płciową i objętością jąder pinealocytów samic i kastrowanych samców świń. Stwierdzili natomiast statystycznie istotne zmniejszenie objętości jąder pinealocytów wywołane przedłużeniem oświetlenia włączanym dodatkowo [13], 2 razy po dwie godziny w ciągu doby.

PROBLEM JEDNOLITOŚCI POPULACJI PINEALOCYTÓW ŚWIŃ

Dotychczas poczynione własne obserwacje wyraźnie wskazują, że komórki mięszone szyszynki suidae nie są morfologicznie identyczne. W szyszynkach dojrzałych osobników obu płci łatwo dają się zauważyć dwa podstawowe rodzaje komórek i to zarówno w mikroskopie świetlnym, jak elektronowym, które były opisywane jako pinealocyty jasne i ciemne [52-54, 56, 57].

Pinealocyty jasne wykazują mniejsze powinowactwo do fuksyny aldehydowej, zawierają mało lipidów i lipofuscyn oraz mają z reguły ubogie w heterochromatynę jądro. Na elektronogramach cytoplazma ich wykazuje mniejszą gęstość elektronową i posiada zwykle niewielką liczbę ciałek gęstych, wśród których ponad 70% reprezentuje typ MBB-2 [55].

W elektronowo gęstej cytoplazmie pinealocytów ciemnych znajduje się bardzo dużo ciałek gęstych, którymi w 80% są MBB-1. W jądrze tych komórek występują w różnej wielkości skupiska heterochromatyny, przylegającej do otoczki jądrowej oraz jąderko, położone najczęściej centralnie [55].

Różnice morfologiczne sugerują, że te dwa typy pinealocytów wywodzą się z różnych prekursorów i spełniają różne funkcje, czyli zgodnie z kryteriami proponowanymi przez Pevet [36] w szyszynce świń, podobnie jak świnki morskiej [29], królika [43, 44] i lisa [25] występują dwie populacje pinealocytów. Wiele obserwacji wskazuje jednak, że obydwa rodzaje pinealocytów reprezentują tylko dwa różne stany funkcjonalne tych samych komórek [24, 52].

Wielu autorów, kierując się przede wszystkim kryterium gęstości elektronowej cytoplazmy, opisywało jasne i ciemne pinealocyty jako jedną populację komórek miąższowych. Na przykład Sheridan i Reiter w szyszynce chomika [47], Gusek - w szyszynce szczura [12]. Wprawdzie już w szyszynce płodów świń obserwuje się pinealocyty o różnej gęstości elektronowej cytoplazmy i różnym stopniu skupienia chromatyny ich jąder, to jednak do dowodów przemawiających na korzyść jednolitości populacji pinealocytów świń można zaliczyć przede wszystkim:

1. Występowanie w obu rodzajach pinealocytów DCV i tych samych ciałek gęstych [55].
2. Obecność komórek przejściowych między pinealocytami ciemnymi i jasnymi [52, 53, 55].
3. Występowanie tylko jednego rodzaju zakończeń wypustek pinealocytów [55].

Gęstość elektronowa cytoplazmy zakończeń wypustek pinealocytów oraz skład ilościowy i jakościowy ich ciałek gęstych jest bardzo zbliżony do cytoplazmy perikarionów pinealocytów ciemnych. Dotychczas nie stwierdzono takich zależności odnoszących się do pinealocytów jasnych czy też przejściowych.

W naszych badaniach rozpatrywano pinealocyty jasne jako komórki, w których być może zachodzi proces transformacji pochodnych tryptofanu do serotoniny. Przypuszczenie to opierano przede wszystkim na wynikach Owmana, który metodą Falka i Hilarp wykrył w pinealocytach świni duże ilości serotoniny zlokalizowanej w małych ziarenkach cytoplazmatycznych [35]. Tym małym ziarnom mogłyby odpowiadać MBB-2 i ewentualnie DCV, występujące obficie w pinealocytach jasnych. Obecność serotoniny w DCV pinealocytów stwierdzono u jaszczurki [5], papugi [17, 18], chomika i rezusa [46], nie stwierdzono natomiast w DCV myszy [19]. Nie świadczy to, a jednocześnie nie wyklucza, że DCV pinealocytów świń rzeczywiście zawierają serotoninę.

Narastanie liczby MBB-2 w cytoplazmie wiąże się z przemianą ich struktury wewnętrznej, być może przy udziale lizosomów. Przekształcanie się MBB-2 w MBB-1 można zaobserwować prawie w każdym pinealocycie. W miarę zaawansowania tego procesu,

pinealocyt jasny przechodzi w postać przejściową aż do momentu, kiedy MBB-1 znajdują się w przewodzie ilościowej. Wtedy komórka rozpoznawana jest jako pinealocyt ciemny. Zadaniem pinealocyta ciemnego byłoby przeniesienie w zbiorniku, za jaki można by uznać MBB-1, serotoniny lub ewentualnych jej pochodnych oraz zawartych w rdzeniu DCV peptydów [37] do przestrzeni międzykomórkowych lub (i) przestrzeni okołonaczyniowych. Proces usuwania fragmentów MBB-1 z cytoplazmy do przestrzeni międzykomórkowych został opisany w szyszynce świń ciężarnych [56].

O występowaniu MBB-1 lub ich skupisk w przestrzeniach międzykomórkowych była mowa wcześniej. Jest to tylko jeden z dwu sposobów usuwania MBB-1 z cytoplazmy perikarionu pinealocytów.

Drugi, naszym zdaniem istotniejszy, wiąże się z przemieszczeniem tych ciałek z cytoplazmy perikarionu do zakończeń wypustek pinealocytów. W czasie tej wędrówki mają miejsce procesy lityczne. Dlatego w zakończeniach wypustek ciała gęste wykazują często bardzo zaawansowany stopień autolizy - od stadiów początkowych do takich, w których ciała przedstawiają się jako elektronowo puste wakuole.

W zakończeniach wypustek, w których proces autolizy jest dopiero zapoczątkowany, znajdują się liczne mitochondria [54] 55]. Uważamy, że w skład produktów autolizy wchodzi ciała czynne szyszynki, które najkrótszą drogą dostają się do naczyń krwionośnych. W ten sposób cytoplazma perikarionu pozbywa się MBB-1. Dzięki temu komórka może być znowu rozpoznawana jako pinealocyt jasny. Jest to tylko hipoteza, która wymaga

dowodów pozwalających na jej potwierdzenie lub odrzucenie. Przyjmując ją jednak, można uważać, że pinealocyty wszystkich badanych przedstawicieli suidae stanowią jedną populację komórek mięszożowych.

KOMÓRKI GLEJOWE

Występują głównie w rdzeniu oraz na granicy kory i rdzenia szyszynki. Różnią się od pinealocytów przede wszystkim brakiem pęcherzyków ziarnistych (DCV). Charakteryzują się one mniejszymi wymiarami, wydłużonym kształtem i jądrem z reguły bogatym w heterochromatynę. W cytoplazmie tych komórek widoczna jest dobrze rozbudowana ziarnista siateczka śródplazmatyczna oraz liczne, często dużych rozmiarów, lizosomy. Komórki te w szyszynkach 90-dniowych płodów ze względu na obecność lizosomów rozpoznawane były jako mikroglejowe (dane nie publikowane).

W tym okresie rozwoju można również łatwo dostrzec lemocyty, leżące w pobliżu naczyń krwionośnych, których cytoplazma obejmuje kilka włókien nerwowych. W szyszynkach samic w wieku ok. 2 lat i u jednorocznych samców bardzo liczne są glejocyty włókienkowe, tworzące siateczkowate rusztowanie rdzenia szyszynki, a w przypadkach obecności jamki centralnej, również glejowe błonki graniczne. W niektórych komórkach mikroglejowych zaobserwowano obecność migawek o układzie 9 + 0 mikrotubul [56].

Komórki ependymalne, jak wspomniano wyżej, nie wyściełają jamki centralnej nawet w przypadkach jej bezpośredniego połączenia z zachyłkiem szyszynkowym [57]. W szyszynkach 60- i

90-dniowych płodów komórki ependymalne tworzą ciągłą wyściółkę, odgraniczającą w ten sposób płyn mózgowo-rdzeniowy od bezpośredniego kontaktu z pinealocytami. Jak zachowuje się ta wyściółka w okresie życia pozapłodowego - nie wiadomo. Brak wyściółki ependymalnej umożliwiłaby, przynajmniej teoretycznie, kierowanie inkretów pinealocytów do komory III.

TKANKA ŚRÓDMIĄŻSZOWA

W szyszynce świni tworzy delikatne utkanie, które jednak nie dzieli miąższu na kompletne płaciki. Delikatne pasma, zbudowane głównie z włókien klejodajnych, łączą się z torebką szyszynki i stanowią rusztowanie dla przegięgu naczyń krwionośnych [52]. U osobników starszych pojedyncze włókna kolagenowe wchodzą do przestrzeni okołonaczyniowych, w których układają się równoległe do przebiegu naczyń krwionośnych. Wraz z wiekiem następuje wyraźna proliferacja łącznotkanowego zrębu. Oprócz włókien kolagenowych rozrastają się też pasma włókien oksytalanowych, o delikatniejszym utkaniu, które niekiedy wciskają się w obręb cytoplazmy pinealocytów [57].

W utkaniu śródmiąższowym występują komórki układu białokrwinkowego, częściej limfocyty niż granulocyty. Szczególnie dużo limfocytów obserwowano w szyszynkach jednorocznych samców [57]. Poza leukocytami występują również komórki zawierające ziarenka pigmentu. W utkaniu śródmiąższowym szyszynki świń nie zanotowano natomiast obecności komórek tłuszczowych [52].

W szyszynce świń nie stwierdzono również obecności wapieniowych konkrementów, nazywanych czasem piaskiem szyszynkowym.

UNACZYNIENIE SZYSZYŃKI

Nie zostało jeszcze szczegółowo zbadane. Z naszych wstępnych obserwacji wynika, że kapilary świń posiadają ściany ciągle [57], bez stwierdzanych u niektórych gatunków ssaków okienek [31]. Ściana naczynia od utkania mięszu oddzielona jest dwoma błonami podstawnymi, między którymi znajduje się przestrzeń okołonaczyniowa. Przestrzenie mogą być otwarte lub zamknięte. Do otwartych przestrzeni wciskają się kolbkowato rozszerzone zakończenia wypustek pinealocytów. W przestrzeniach znajdują się liczne bezrdzenne włókna nerwowe [52].

Dotychczas uzyskane wyniki badań dostarczyły wielu informacji dotyczących budowy mikroskopowej i ultrastruktury szyszynki świń. Będą one stanowiły podstawę do podjęcia badań eksperymentalnych, zmierzających przede wszystkim do wyjaśnienia roli unikalnych struktur szyszynki świń, jakimi są ciała gęste.

LITERATURA

1. Anderson E.: The anatomy of bovine and ovine pineals light and electron microscopic studies. *J. Ultrastr. Res.* 1965, Suppl. 8, 1-80.
2. Arvy L.: Contribution a la connaissance de la glande pinéale de *bos taurus* L. d'*ovis aries* L. et de *Sus scrofa* L. *C. R. Acad. Sci.* 1961, 1363.
3. Blin P. C., Maurin C.: Anatomie microscopiques de l'épiphyse des mammifères domestiques. *Rec. med. vet.* 1956, 132, 36-53

4. Boya J., Calvo J.: Ultrastructural study of the posthatching evolution of the pineal gland of the chicken (*Gallus gallus*). *Acta Anat.* 1980, 107, 143-168.
5. Collin J.P., Juillard M. T., Falcon J.: Localization of 5-hydroksytryptamine and protein (s) in the secretion granules of the rudimentary photoreceptor cells in the pineal of *Lacerta*. *J. Neurocytol.* 1977, 6, 541-554.
6. Cozzi B., Ferrandi B.: The pineal gland of the horses. Morphological and histochemical results. (With notes on the donkey and mule pineal). *Bas. Appl. Histochem.* 1984, 28, 81-90.
7. Dacheux F., Martinat N.: Immunocytochemical localisation of LH, FSH and TSH in the fetal porcine pituitary. *Cell Tiss. Res.* 1983, 228, 277.
8. Del Rio Hortega P.: Pineal gland. In Penfield W (ed). "Cytology and Cellular Pathology of the nervous system". 1932, Vol 2, New York Moeber, pp 637-703.
9. Dumm C. L., Iturriza F. C.: On the presence of conspicuous electron dense bodies in the pinealocytes of the pig. *Cell Tiss. Res.* 1979, 201, 507-510.
10. Flight W. F. G.: Morphological and functional comparison between the retina and the pineal organ of lower vertebrates. *Progr. Brain Res.* 1979, 52, 131-148.
11. Gregorek J. C., Seibel H. R., Reiter R. J.: The pineal complex and its relationship to other epithalamic structures. *Acta Anat. (Basel)*. 1977, 99, 425-434.
12. Gusek W.: Die Feinstruktur der Rattenzirbel und ihr Verhalten unter Einfluss von Antiandrogen und nach Kastration. 1976, *Endokrinologie* 67, 129-151.
13. Gutte G., Grütze J., Mosebach R.: Morphologische Veränderungen an der Epiphysis cerebri weiblicher und kastrierter männlicher Schweine nach Anwendung unterschiedlicher Lichtregimes, *Arch. exper. Vet. med.* 1982, 36, 315-321.
14. Haug H.: Die Epiphyse und circumventriculären Strukturen des Epithalamus und Gehirn des Elefanten (*Loxodonta africana*). *Z. Zellforsch. mikrok. Anat.* 1972, 129, 533-547.

15. Holtz W., Kallweit E.: Körperbau und Körperentwicklung Das Göttinger Miniaturschweinen. 1981 Paul Parey, Berlin Hamburg str. 36.
16. Hälsemann M.: Vergleichende histologische. Untersuchungen über das Vorkommen von des Gliafasern in der Epiphisis cerebri von Säugetieren. Acta Anat. (Basel) 1967, 66, 249-278.
17. Juillard M. T., Collin J. P.: L'organe pineal aviaire etude ultracytochimique et pharmacologique d'un "pool" granulaire de 5-hydroxytryptamine chez la Perruche (*Melopsittacus undulatus*, Shaw). J. Microscopie Biol. Cell. 1976, 26, 133-138.
18. Juillard M. T., Hartwig H. G., Collin J. P.: The avian pineal organ. Neural Transm. 1977, 40, 269-287.
19. Juillard M. T.: The protainaceous content and possible physiological significance of dense-cored vesicles in hamster and mouse pinealocytes. Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys. 1979, 19, 413-428.
20. Kappers J. A.: The development, topographical relations and innervation of the epiphisis cerebri in the albino rat. Z. Zellforsch microsc. Anat. 1960, 52, 163-215.
21. Kappers J. A.: The epiphysi cerebri. Organoma 1973, 10 nr 3.
22. Kappers J. A.: Localization of indoleamine and protein in the mammalian pineal gland. Neural Transm. 1978, Suppl. 13, 13-24.
23. Karasek M.: Przyczynek do badań nad istotą tzw. kul jądrowych (Kernkugeln) w komórkach szyszynki. Folia Morph. 1967, 26, 335-339.
24. Karasek M., Wyrzykowski Z.: The ultrastructure of pinealocytes in the pig. Cell Tiss. Res. 1980, 211, 151-161.
25. Karasek M., Hansen J. T.: Ultrastructure of the pineal gland of the fox. Am. J. Anat. 1982, 163, 257-267.
26. Krstic R.: A combined scanning and transmission electron microscopic study and electron probe microanalysis of human pineal acervuli. Cell Tiss. Res. 1976, 174, 129-137.

27. Legait H., Bauchot R., Stephan H., Contet-Andormeau J. L.: Étude des corrélations liant le volume de l'épiphyse aux poids somatique et encephalique chez les rongeurs les insectivores, les chiropteres les prosimiens et les simiens. *Mammalia*, 1976, 40, 327-337.
28. Lerner A. B.: Hormones in the pineal other than melatonin. *J. Neural Transm.* 1978. Suppl. 13, 131-133.
29. Lues G.: Die Feinstruktur der Zierbeldrüse normales trächtiger und experimentel beeinflusster Meerschweinchen. *Z. Zellforsch.* 1971, 114, 38-60.
30. Łukaszyk A., Reiter R. J.: Histophysiological evidence for the secretion of polypeptides by the pineal gland. *Am. J. Anat.* 1975, 143, 451-464.
31. Matsushima S., Reiter R. J.: Ultrastructural observations of pineal gland capillaries in four rodent species. *Am. J. Anat.* 1975, 143, 265-282.
32. Nesić L., Kadic M.: Contribution to the knowledge of histophysiological characteristics of the pineal gland of ewes during pregnancy. *Progr. Brain Res.* 1979, 52, 437-443.
33. Oksche A., Hartwig H. G.: Pineal sense organs - components photoneuroendocrine system, *Progr. Brain Res.* 1979, 52, 113-130.
34. Omura Y.: Ultrastructural study of embryonic and posthatching development in the pineal organ of the chicken. Brown Leghorn, *Gallus domesticus*. *Cell Tiss. Res.* 1977, 183, 255-271.
35. Owman Ch.: Localization of neuronal and parenchymal monoamines under normal and experimental conditions in the mammalian pineal gland. *Progr. Brain Res.* 1965, 10, 425-454.
36. Pevet P.: On the presence of different populations of pinealocytes in the mammalian pineal gland. *J. Neural Transm.* 1977, 40, 289-304.
37. Pevet P., Karasek M.: Are the pineal active compounds of mammals proteinaceous in nature. An ultrastructural contribution. *Acta Med. Pol.* 1977, 18, 351-353.

38. Pevet P.: Secretory processes in the mammalian pinealocyte under natural and experimental conditions. *Progr. Brain Res.* 1979, 52, 149-194.
39. Pevet P.: Anatomy of the pineal gland of mammals in "The pineal gland". Ed by Relkin N.Y. Amsterdam, Oxford 1983, 1-75.
40. Quey W. B.: The demonstration of a secretory material and cycle in the parenchymal cells of the mammalian pineal organ. *Progr. Brain Res.* 1956, 10, 541-544.
41. Quay W. B.: Histological structure of the pineal organ in birds and mammals. *Progr. Brain Res.* 1965, 10, 49-86.
42. Reiter R. J.: Evidence for an endocrine function of the human pineal organ. *J. Neural Transm.* 1978, Suppl. 13, 247-249.
43. Romijn H. J.: Structure and innervation of the pineal gland of the rabbit, *Oryctolagus cuniculus* (L.) with some functional considerations. Thesis, Amsterdam. 1973, 79 pp.
44. Romijn H. J.: Structure and innervation of the pineal gland of the rabbit, *Oryctolagus cuniculus*. II (An Electron Microscopic investigations of the pinealocytes). *Z. Zellforsch.* 1973, 141, 545-560.
45. Sano Y., Mashimo T.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen an der Epiphysis cerebri beim Hund, *Z. Zellforsch.* 1966, 69, 129-139.
46. Sheridan M. N., Sladek J. R. jr.: Histofluorescence and ultrastructural analysis of hamster and monkey pineal. *Cell Tiss. Res.* 1975, 164, 145-152.
47. Sheridan M. N., Reiter R. J.: The fine structure of the hamster pineal gland. *Am. J. Anat.* 1968, 122, 357-376.
48. Vollrath L., Boeckmann D.; Comparative anatomy of the rodent pineal complex. *Gen. comp. Endocrinol.* 1978, 34, No 1, Abstract No 39.
49. Vollrath L.: Comparative morphology of vertebrate pineal complex *Progr. Brain Res.* 1979, 52, 25-38.
50. Welsh M. G.: Pineal calcification: structural and functional aspects. *Pineal Research Reviews.* 1985, 3, 41-68.

51. Wyrzykowski Z., Karasek M., Przybylska B., Wyrzykowska K.: Ultrastructure of the capillaries in the pig pineal gland. Proceeding of the XII-th Conference on Electronmicroscopy, Rydzyna, 9th to 11th October, 1980.
52. Wyrzykowski Z., Wyrzykowska K., Przybylska B.: Histology and ultrastructure of the pineal gland in mature female domestic pig. *Folia Morph.* 1981, 40, 217-228.
53. Wyrzykowski Z., Wyrzykowska K., Przybylska B.: Histological and ultrastructural studies on the pineal gland of castrated male and pregnant female of domestic pig. *Folia Morph.* 1981, 40, 83-86.
54. Wyrzykowski Z., Przybylska B., Wyrzykowska K.: Ultrastructure and topography of dense bodies in pinealocytes of castrated male of domestic pig. *Folia Morph.* (w druku). 1985.
55. Wyrzykowski Z., Wyrzykowska K., Przybylska B.: Morphologic and cytochemical studies of the pig pinealocyte with special consideration of the cytoplasmic dense bodies. *Folia Morph.* 1985 (w druku).
56. Wyrzykowski Z., Przybylska B., Wyrzykowska K.: Morphology of the pineal gland in the pregnant and nursing sows. *J. Pineal Res.* (w druku).
57. Wyrzykowski Z., Wyrzykowska K., Przybylska B.: Morphology of the boars pineal gland. (w druku).
58. Wyrzykowski Z., Wyrzykowska K., Przybylska B.: Ultrastructure of the pineal gland in wild boars and miniature pigs. *Folia Morph.* (w druku).
59. Wyrzykowski Z., Przybylska B., Wyrzykowska K.: Ultrastructure of the swine pineal gland with notes on pineals of wild boars and miniature pigs. *J. Pineal Res. Suppl.* Ed J. Libbey and Company Limited (in press).

Z. Wyrzykowski, K. Wyrzykowska, B. Przybylska

THE SWINE PINEAL GLAND

S u m m a r y

The work sums up the results of own morphological and histochemical investigations on pineal gland.

The results of these experiments show that swine's pineal gland exhibits numerous cytoplasmatic granules - dense bodies in the pinealocytes, which are not so abundant in other mammal species. The dense bodies can already be observed in the pinealocytes of 90 days old fetuses and in mature individuals, apart from the age, sex and even the lack of gonades at males.

Three fundamental kinds of the dense bodies were distinguished, from which two of them also exist in the pinealocytes in miniature pigs and wild boars.

The genesis and the role of the dense bodies of pinealocytes suidae are discussed. We regard the dense bodies as secondary lysosomes which take an active part in producing the active components of the swine pineal gland.

The role of the dense bodies consists of storing components or products of secretion, their eventual synthesis and transmitting to blood or cerebrospinal fluid.

Morphologically different forms of the dense bodies as well as the pinealocytes themselves are considered as different functional stages of the same bodies - cells.

Apart from the dense bodies the pinealocytes of all examined representatives of suidae possess well developed Golgi complexes, ribosomes in polisomes forms and cristate mitochondria, among which there are also characteristic "swallowed" forms at mature swines. The vessel endothelium contains continuous thick walls.

The presence of "calcified concretions" was not observed in all examined animals.

З. Выжиковски, К. Выжиковска, Б. Пшибыльска

ЭПИФИЗ СВИНЕЙ

Резюме

Работа является подведением итогов собственных морфологических и гистохимических исследований эпифиза свиней. Результаты исследований показывают, что эпифиз свиней отличается обилием иттоплазматических зёрен - густых телец пинеалоцитов (пинеальных клеток) не встречающихся у других видов млекопитающих. Густые тельца наблюдаются уже в пинеалоцитах 90 дневных плодов, а также у взрослых особей, независимо от возраста, пола, а даже отсутствия гонад у самцов. Различаем три основных типа густых телец, из которых два встречаются тоже в пинеальных клетках (пинеалоцитах) миниатюрных свиней и кабанов.

Обсуждается генезис и роль густых телец пинеалоцитов **suidae**. Мы рассматриваем густые тельца как вторичные лизосомы, которые принимают активное участие в образовании активных телец эпифиза свиней. Роль густых телец состоит в накоплении компонентов или продуктов секреции, их возможном синтезе и транспортировке в кровь

или в цереброспинальную жидкость. Морфологически разные формы густых телец, так же и самых пинеалодитов рассматриваются как разные этапы этих же телец - клеток.

Кроме густых телец пинеалодиты у всех исследуемых представителей *suidae* имеют хорошо развит аппарат Гольджи, рибосомы в виде полисомов, а также гребенчатые митохондрии, среди которых у взрослых свиней типичны „придушные“ формы.

В эндотелиях сосудов имеются непрерывные толстые стенки. Кроме того у всех исследуемых животных не обнаружено наличия компонентов типа „шишковидный песок“.